WIRKUNG VON ACTIHAEMYL AUF DEN KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL

Untersuchungen in vivo

Werner Bachmann

1960

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

WIRKUNG VON ACTIHAEMYL AUF DEN KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL

Untersuchungen in vivo

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Werner Bachmann

aus Marktleuthen

München 1968

A. Schubert · München 5 · Corneliusstr. 21 · Telefon 22 17 77

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv. - Doz. Dr. H. MEHNERT
Korreferent:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 9.4.1968

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I.	EINLEITUNG	5
II.	METHODIK	8
III.	ERGEBNISSE	16
IV.	DISKUSSION	38
V.	ZUSAMMENFASSUNG	42
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	45

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0057

I. EINLEITUNG

Die Glukose mit ihren verschiedenen Abbauwegen nimmt eine zentrale Stellung im Stoffwechsel ein. Unter bestimmten Bedingungen kann sogar der gesamte Energiebedarf des Säugetierorganismus aus dem Glukoseabbau gedeckt werden. Alle übrigen Stoffwechselwege sind über den Glukosestoffwechsel miteinander verknüpft. Nicht zuletzt wegen ihrer leichten Nachweisbarkeit steht die Glukose seit jeher im Mittelpunkt biochemischer und physiologischer Untersuchungen.

Zwei Abbauwege der Glukose sind bekannt:
Der glykolytische (sog. EMDEN-MAYERHOFF-Weg), der unter aeroben Bedingungen zusammen mit dem Zitronensäurezyklus den hauptsächlichen Energiebedarf der Zelle deckt und der sogenannte
Pentose-Phosphatzyklus (WARBURG-LIPPMANN-DICKENS-HORECKER-Weg), der zur Bildung von Pentosen führt. Die Pentosen stellen wesentliche Bausteine für die Bildung von Nucleinsäuren und damit indirekt für die Proteinsynthese dar.
Beide Abbauwege führen über Glukose-6-Phosphat, das die erste Stufe der Glukoseverwertung bildet. Glukose-6-Phosphat steht im Gleichgewicht mit Glukose-1-Phosphat, das die erste Stufe des Glykogenstoffwechsels darstellt.

Während man lange Zeit annahm, daß Insulin die Bildung des Glukose-6-Phosphats durch Aktivierung des Enzyms Hexokinase beschleunigt (CORI und Mitarb.), wird heute als primärer Angriffspunkt des Insulins die Beeinflussung der Glukosepenetration durch die Zellmembran diskutiert.

Diese Permeabilitätstheorie von LEVINE und GOLDSTEIN führt zwanglos zum Verständnis einer Reihe von Insulin-abhängigen Stoffwechselvorgängen, soweit sie mit dem Stoffwechsel der Glukose zusammenhängen, wie z.B.

a) Steigerung der Glykogenbildung
b) Vermehrte Glukose-Oxydation
c) Steigerung der Eiweißsynthese (ATP-abhängige Aminosäureaktivierung, etc.)
d) Verhinderung des Fettabbaus und der Ketonkörperbildung durch Resynthese von Fetten aus freien Fettsäuren und Alpha-Glycerophosphat.

Nicht alle Beobachtungen von Insulinwirkungen lassen sich jedoch mit einem erhöhten Glukose-Transport erklären. So z.B. der erhöhte Transport von Ka-

lium und die Hemmung der Glykolyse in Abwesenheit von Glukose, die Steigerung der Proteinsynthese im Zusammenhang mit einer Stimulierung der RNS-Synthese (WOOL), endlich die Induktion oder Repression einiger Enzyme (WEBER et al.).

Zusammenfassend läßt sich die Insulin-Wirkung unter physiologischen Bedingungen als die eines anabolen Hormons, das den Aufbau von Glykogen, Protein und Fett fördert, definieren. Insulin wird heute jedoch kaum mehr als Anabolikum verwendet. Diesen therapeutischen Bereich haben jetzt vorwiegend Steroid-Derivate, insbesondere die aus der Testosteronreihe, eingenommen.

In den letzten Jahren ist ein Präparat bekanntgeworden, dessen Eigenschaften man ebenfalls als anabol definieren kann, dessen Wirkungsmechanismus sich jedoch sicher von dem der anabolen Steroide unterscheidet. Es handelt sich um Actihaemyl, ein aus dem Blut junger Kälber gewonnener eiweißfreier Extrakt, der sich klinisch -wie aus zahlreichen Veröffentlichungen hervorgeht- durch Beeinflussung von trophischen Störungen verschiedener Ätiologie bewährt hat (MEYTHALER, SCHIRREN und Mitarb., KAPPERT, GABKA, BROGHAMMER).

Die anabole Wirkung des Extraktes läßt sich aus biochemischen und physiologischen Befunden über eine verbesserte Sauerstoffutilisation besonders unter hypoxischen Bedingungen erklären (STAUDINGER, REICHEL). Bei Durchsicht der Literatur über die experimentellen und klinisch-experimentellen Untersuchungen zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus läßt sich jedoch feststellen, daß neben der verbesserten Sauerstoffutilisation eine Insulin-ähnliche Wirkung nachweisbar ist. Möglicherweise steht der Insulin-ähnliche Effekt sogar im Vordergrund des Wirkungsmechanismus.

Die eingangs angeführten Insulin-Wirkungen lassen sich im wesentlichen auch im Blutextrakt nachweisen. So wird z.B. der Glukoseeintritt in die Hirnzelle beschleunigt (QUADBECK), die Glykogenbildung wird erhöht (SCHWABE), die Glukose-Oxydation wird verbessert (STAUDINGER, SCHÄFER) und die Eiweißsynthese wird gesteigert, wie z.B. an verschiedenen Modellen einer beschleunigten Wundheilung nachgewiesen wurde (WICKINGEN, BROGHAMMER, GABKA).

Der Einfluß auf den Fettstoffwechsel wurde u.a. von HAMMERL u. Mitarb. untersucht, wobei unter dem Einfluß des Blutextraktes ein signifikanter Abfall der Konzentrationen freier Fettsäuren im Plasma und ein beschleunigter Abbau infundierter Fettemulsionslösungen festgestellt werden konnte.

Auch andere Insulin-abhängige Stoffwechselvorgänge ließen sich mit dem Blutextrakt in vitro beeinflussen. So fand BREUER eine Kaliumkonzentrierung in der Nierenzelle. Die Stimulierung der Proteinsynthese durch Actihaemyl zeigte

sich auch in der Induktion der Synthese einiger Enzyme (BREUER, GOSLAR) und in letzter Zeit gelang WEINGES der Nachweis einer Förderung der Glukoseaufnahme und einer zumindest partiellen Hemmung der Lipolyse am isolierten Fettgewebe und damit der eindeutige Nachweis einer Insulin-ähnlichen Aktivität des Extraktes.

Problemstellung

Im Rahmen unserer Untersuchungen über den Glukose-Stoffwechsel erschien uns von Interesse, den Einfluß von Actihaemyl auf Blutzucker, Zwerchfell- und Leberglykogen, z.T. unter Belastung mit Glukose bzw. Fettemulsionen, am Ganztier zu untersuchen. Es war zu erwarten, daß die Resultate weiteren Aufschluß über die Insulin-ähnliche Aktivität des Präparates geben oder zur Widerlegung der oben dargestellten Zusammenhänge zwischen Insulinwirkung und der Wirkung des Extraktes dienen könnten.

Ergänzt wurden die tierexperimentellen Untersuchungen durch Prüfungen an gesunden Probanden, wobei auch das Verhalten einiger Serum-Fermente mit einbezogen wurde.

II. METHODIK

1.) VERSUCHSANORDNUNGEN BEI DER RATTE

A) Glukosebelastungen

Ratten zwischen 200-300 g, die 24 Stunden gehungert hatten, wurden mit 0,1 g Urethan pro 100 g Körpergewicht und zusätzlich mit Äther narkotisiert. Durch die Vena jugularis wurden innerhalb von 2 Minuten mittels eines kurzen Venenkatheters 2,0 ml einer 20- bzw. 50 %igen Glukoselösung in Ringer, Actihaemyl bzw. Actihaemyl-Leerpräparat (eine künstlich hergestellte Lösung mit den wesentlichen im Actihaemyl analytisch festgestellten Bestandteilen (vgl. JAEGER u. Mitarb. Tabelle 5)) infundiert. Das entspricht 400 mg oder 1000 mg Glukose pro Ratte. Die Blutentnahme erfolgte aus dem Schwanz vor Versuchsbeginn, 5 Minuten und dann viertelstündlich bis 180 Minuten nach Injektion. Zur Kontrolle wurde beim letzten Wert zusätzlich Herzblut verwandt.

B) Vorbehandlung mit Insulinantiserum

Herstellung des Insulinantiserums: Nach Angabe von SIESS und WIELAND wurde 1 ml eines Antigengemisches aus 2 Teilen Insulinlösung (2 mg/ml) in 0,004 n HCl, 1 Teil Tween 80 und 1 Teil Paraffinöl in 14-tägigem Abstand Meerschweinchen unter die Nacken- und Rückenhaut injiziert. Die Blutentnahme erfolgte am 10. Tag nach der letzten Injektion (nach 6-12 maliger Immunisierung) durch Herzpunktion in kurzer Äthernarkose. Anschließend wurde das Blut 1-2 Stunden bei Raumtemperatur und 12-16 Stunden bei 4° C stehen gelassen, dann zentrifugiert und das Serum in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.
Die Ratten wurden 2 Tage mit je 3,0 ml Actihaemyl, Actihaemyl-Leerpräparat oder Ringerlösung intraperitoneal behandelt. Dann wurde in Urethan-Narkose (Urethan 0,1 g/100 g Körpergewicht), die durch Äther unterstützt wurde, den Tieren durch die Vena jugularis jeweils 2,0 ml Ringer bzw. Actihaemyl oder Actihaemyl-Leerpräparat und 3,0 ml Insulinantiserum injiziert. Die Blutentnahme aus dem Schwanz erfolgte in der ersten Stunde viertelstündlich, dann halbstündlich bis insgesamt vier Stunden. Beim letzten Mal erfolgte die Blutentnahme zusätzlich aus dem Herzen.

C) Bestimmung von Blutglukose, Zwerchfell- und Leberglykogen bei Ratten, die eine Woche lang mit Actihaemyl oder Leerpräparat oder Ringerlösung vorbehandelt wurden.

80-120 g schwere Ratten wurden sieben Tage lang mit 2,0 ml Actihaemyl, Actihaemyl-Leerpräparat oder Ringerlösung intraperitoneal injiziert. Die letzte Injektion erfolgte zwölf Stunden vor Tötung. Von diesem Zeitpunkt an hungerten die Ratten. Die Blutentnahme erfolgte aus den Zungengrundvenen bei den nicht narkotisierten Tieren, Zwerchfell und Leber wurden sofort nach Tötung der Ratten entnommen und in Kalilauge gelegt.

D) Glykogenbestimmungen des Zwerchfells und der Leber der mit Actihaemyl bzw. Actihaemyl und Glukose behandelten Tiere.

Zu allen Versuchen dieser Gruppe wurden Ratten mit einem Gewicht zwischen 80 g und 120 g verwendet.

Gruppe A: Intraperitoneale Injektion von 4,0 ml Actihaemyl oder Ringerlösung.

Gruppe B: Intraperitoneale Injektion von 4,0 ml Actihaemyl oder Ringerlösung mit 2 % Glukose (80 mg) in der Actihaemyl- oder Ringerlösung.

Gruppe C: Intraperitoneale Injektion von 4,0 ml Actihaemyl oder Ringerlösung mit 20 % Glukose (800 mg) in der Actihaemyl- oder Ringerlösung.

Die Tiere dieser drei Versuchsreihen hatten 18-20 Stunden gehungert. Eine, zwei, drei bzw. vier Stunden nach Injektion wurden die Tiere getötet und das Glykogen im Zwerchfell und Leber bestimmt. Bei einem Teil der Tiere erfolgte auch Blutglukosebestimmung.

2) VERSUCHSANORDNUNG BEI KANINCHEN

Fettbelastung mit Glukosezusatz

Die Narkose der Kaninchen (mit einem Durchschnittsgewicht von 4 kg) erfolgte mit 7,5 ml einer 10 %igen Urethanlösung/kg Körpergewicht und Äther. In die

Vena femoralis wurde ein etwa 20 cm langer Katheter eingeführt, über den 20,0 ml Actihaemyl, Actihaemyl-Leerpräparat oder Ringerlösung injiziert wurden. Fünfzehn Minuten später erfolgte langsame Infusion von 25,0 ml Infonutrol, das auf eine 40 %ige Glukoseendkonzentration gebracht worden war. Das Blut wurde ebenfalls über diesen Katheter, der mittels einer Ringerlösung (3-5 Tropfen/Min.) offen gehalten wurde, vor der Infonutrol-Infusion und 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 Minuten nach der Infusion entnommen.

3) VERSUCHSANORDNUNGEN BEI GESUNDEN VERSUCHSPERSONEN

a) Bestimmung der Blutglukose

Bei zehn Versuchspersonen wurde an zwei Tagen morgens im nüchternen Zustand die Glukose im venösen Blut bestimmt. Anschließend wurde an den sieben darauffolgenden Tagen nach der Blutentnahme jeweils 0,5 ml Actihaemyl pro kg Körpergewicht i.v. injiziert. Am dritten und am sechsten Tag der Versuchsperiode, d.h. nach zwei bzw. fünfmaliger Actihaemylinjektion, wurde eine zweite Blutentnahme eine Stunde nach Actihaemylinjektion vorgenommen. Die Blutzuckerbestimmungen wurden noch zwei Tage über die letzte Actihaemylinjektion hinaus fortgesetzt.

b) Bestimmung von SGOT und SLDH

Zehn nüchternen Probanden wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils vier Ampullen Actihaemyl (20,0 ml) intravenös injiziert. Vor jeder Injektion und am vierten Tag wurde Venenblut zur Bestimmung von GOT und LDH abgenommen.

4) CHEMISCHE METHODEN

A) Nachweis der Glukose im Blut

Der Nachweis erfolgte enzymatisch nach der Modifikation von HUGGETT und NIXON (Boehringer-Testverfahren). Dieser Fermentnachweis beruht auf der von der Glukoseoxydase katalysierten Oxydation der Glukose zu Glukuronsäure, wobei Wasserstoffperoxyd entsteht, das in Anwesenheit von Peroxydase o-Dianisidin-Hydrochlorid zu einem rotbraunen Farbstoff oxydiert. Die Konzentration des Farbstoffes, der bei 436 mμ im Photometer Eppendorf gemessen wird, erlaubt eine quantitative Bestimmung der Glukose. Zum Test wurden 0,5 ml mit Uranylacetat enteiweißtes Serum auf 10 ml Glukosereagenz verwendet.

B) Glykogenbestimmung in Zwerchfell und Leber modifiziert nach RAFAELSEN (FÖRSTER et al.)

Das Zwerchfell wurde mit 4,0 ml einer 30 %igen Kalilauge in ein großes Zentrifugenglas gegeben (25 ml) und 90 Minuten lang in einem kochenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung wurde das Glykogen mit 6,0 ml absolutem Alkohol ausgefällt und die Probe nach Durchmischung 20 Stunden stehen gelassen. Nach 30-minütigem Zentrifugieren wurde die Flüssigkeit abgeschüttet und zum Niederschlag 4,0 ml 2n-Salzsäure gegeben. Zur Hydrolyse erhitzte man nun 90 Minuten im kochenden Wasserbad. Mit 4,0 ml 2n-Natronlauge wurde anschließend neutralisiert und mit Aua dest. auf 10,0 ml aufgefüllt. Die Glukosebestimmung erfolgte mittels Glukoseoxydase/Peroxydase, wobei 0,5 ml des Hydrolysates mit 5,0 ml Puffer-Enzym-Chromogenlösung versetzt wurden.

Bei der Bestimmung des Leberglykogens wurde die Leber in 10,0 ml 35 %ige Kalilauge gegeben, 90 Minuten in kochendem Wasserbad erhitzt, mit 10,0 ml absolutem Alkohol versetzt, durchgerührt und ebenfalls 20 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann wurde 45 Minuten zentrifugiert und zum Niederschlag 10,0 ml 2n-Salzsäure gegeben. Nach 90-minütigem Erhitzen wurde mit 10,0 ml 2n-Natronlauge neutralisiert und auf 50,0 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Zum Glukosenachweis wurden 0,5 ml des Hydrolysates mit 10,0 ml Puffer-Enzym-Chromogenlösung versetzt.

C) Nachweis der Fettsäuren modifiziert nach DUNCOMBE

0,5 ml Serum, 3,5 ml Aqua dest. und 4,0 ml Chloroform wurden in ein Schliffzentrifugenglas gegeben und 10 Minuten maschinell intensiv geschüttelt. Zur Trennung der beiden Phasen wurde 10 Minuten zentrifugiert, anschließend die wäßrige abgesaugt. Von der unteren Phase wurden 2,0 ml abpipettiert, in ein weiteres Schliffzentrifugenglas gegeben und mit 3,0 ml Chloroform versetzt. Nach Zugabe von 2,5 ml Kupfer-Reagenz (9 Teile wäßrige 1 m Triaethanolaminlösung, 10 Teile 6,45 %ige $Cu(NO_3)_2 \cdot 3\ H_2O$-Lösung und 1 Teil 1 n Essigsäure) wurde wieder stark 10 Minuten lang geschüttelt. Dann wurde die obere wäßrige Phase abgesaugt und verworfen. Von der unteren Phase wurden 3 ml in ein Reagenzglas abpipettiert, dazu 0,5 ml Diaethyldithiocarbamat-Reagenz gegeben (0,1 %ige Natriumdiaethyldithiocarbamat-Lösung in Butan-2-ol redest.).

Bei Anwesenheit eines Kupfer-Fettsäure-Komplexes ergaben sich nach Durchmischen je nach Konzentration verschiedene Farbintensitäten, die am Photometer Eppendorf in einer 2 cm^3-Küvette bei 436 mμ abgelesen wurden.

D) Nachweis der Aminosäuren nach TROLL und CANNAN

Zur Enteiweißung wurden 0,1 ml Blut mit 3,0 ml 10 %iger Trichloressigsäure versetzt und dann zentrifugiert. Vom Zentrifugat wurden 0,5 ml abpipettiert und mit je 1,0 ml KCN-Pyridinreagenz und 80 %igem Phenol vermischt. Anschließend wurde in kochendem Wasserbad vier Minuten lang erhitzt. Nach Zusatz von 0,2 ml Ninhydrin 5 %ig in absolutem Alkohol wurde nochmals im siedenden Wasserbad für 6 Minuten erhitzt. Danach wurde in Eiswasser abgekühlt und mit 10,0 ml 60 %igem Äthanol aufgefüllt. Die Ablesung der Farbintensität, die ein Maß für die Aminosäurekonzentration darstellt, erfolgte am Photometer bei Wellenlänge 578 mμ gegen den Reagenzienleerwert.

E) Triglyceridnachweis nach WIELAND

Zur Hydrolyse der Triglyceride wurden 0,5 ml Serum mit 1,0 ml 1 n alkoholischer Kalilauge versetzt und 30 Minuten bei 70°C inkubiert. Vor und nach Hydrolyse wurde die Glyzerinkonzentration bestimmt.
Dazu wurden direkt in die Küvette gegeben:

0,1 ml Hydrolysat
2,0 ml Puffer (3,75 g Glykokoll + 2,4 ml Hydraziniumhydroxyd + 1,1 g $MgSO_4$ + Aqua dest. ad 100,0 ml)
0,2 ml ATP-Lösung (200 mg auf 10,0 ml Aqua dest.)
0,2 ml DPN-Lösung (300 mg auf 10,0 ml Aqua dest.)
0,05 ml Glycerokinase (Boehringer)

Nach Messung der Extinktion (= Ausgangswert bei 366 mμ) wurden 0,01 ml Glycerin-1-Phosphat-Dehydrogenase (Boehringer) zugegeben und jede Minute bis zum Stillstand der Reaktion die Extinktion abgelesen.

Die Differenz zwischen End- und Ausgangswert ist ein Maß für die entstandene Glycerinmenge. Die Differenz der Ergebnisse vor und nach Hydrolyse gibt die Menge der im Serum enthaltenen Triglyceride wieder.

5) BESCHREIBUNG DES PRÄPARATES ACTIHAEMYL UND DES LEERPRÄPARATES

Actihaemyl ist ein eiweißfreier auf Förderung der Zellatmung standardisierter Extrakt aus dem Blut junger Kälber mit hoher RES-Aktivität (vergl.: JAEGER u. Mitarb.). Die klare wäßrige hypertone Lösung hat ein Trockengewicht von 40-45 mg/ml, der pH-Wert liebt bei 7,1. Die analytixchen Untersuchungen des Präparates zeigten, daß rund 75 % der Trockensubstanz aus anorganischen und etwa 25 % aus organischen Bestandteilen besteht, deren Molekulargewicht 3000 nicht überschreitet.

Die mittleren Analysenwerte des Blutextraktes im Vergleich zu mittleren Normalwerten im Serum bzw. Plasma können aus der oben zitierten Veröffentlichung entnommen werden. (Vergl. Tabelle A.)

TABELLE A

Mittlere Analysenwerte des Blutextraktes im Vergleich zu mittleren Normalwerten im Serum bzw. Plasma (nach Documenta Geigy, 61. Auflage 1960 bzw. FLASCHENTRÄGER, Physiol. Chemie 1954)

	Blutextrakt		Serum oder Plasma	
	mg%	Molarität	mg%	Molarität
Phosphor	25,4	$0,823 \times 10^{-2}$	12,1	$0,391 \times 10^{-2}$
Chlor	1612,0	0,455	368	0,104
Stickstoff	110,0	$0,786 \times 10^{-1}$	30	$0,214 \times 10^{-1}$
Schwefel	1,0	$0,313 \times 10^{-3}$	3,38	$0,105 \times 10^{-2}$
Carbonat	54,0	$0,123 \times 10^{-1}$	108	$0,245 \times 10^{-1}$
Natrium	685,0	0,298	333	0,145
Kalium	265,0	$0,678 \times 10^{-1}$	16,8	$0,430 \times 10^{-2}$
Calcium	2,9	$0,724 \times 10^{-3}$	10	$0,250 \times 10^{-2}$
Magnesium	2,5	$0,103 \times 10^{-2}$	1,92	$0,790 \times 10^{-3}$
Eisen	0,07	$0,125 \times 10^{-4}$	0,10	$0,179 \times 10^{-4}$
Kupfer	0,07	$0,110 \times 10^{-4}$	0,11	$0,173 \times 10^{-4}$
Silizium	Spuren			
Mangan	Spuren			
Aluminium	Spuren		0,024	$0,890 \times 10^{-5}$
Glukose	186,0	$0,103 \times 10^{-1}$	97	$0,528 \times 10^{-2}$
Andere Hexosen	70,0	$0,388 \times 10^{-2}$	121	$0,671 \times 10^{-2}$
Andere reduzierende Substanzen	90,0		3	
Glukosamin	10,9	$0,609 \times 10^{-3}$		
Harnstoff	120,0	$0,197 \times 10^{-1}$	26,8	$0,446 \times 10^{-2}$
Harnsäure	6,9	$0,414 \times 10^{-3}$	3	$0,178 \times 10^{-3}$
Kreatin	8,5	$0,648 \times 10^{-3}$	4	$0,310 \times 10^{-3}$
Kreatinin	4,5	$0,398 \times 10^{-3}$	6	$0,520 \times 10^{-3}$
Peptide	54,0			
Glutathion	Spuren		28	$0,913 \times 10^{-3}$
AMP	0,7	$0,202 \times 10^{-4}$		
ADP	0,6	$0,140 \times 10^{-4}$		
α-Ketoglutarsäure	0,7	$0,480 \times 10^{-4}$	0,8	$0,548 \times 10^{-4}$
Bernsteinsäure	nicht nachweisbar		0,5	$0,420 \times 10^{-4}$
Brenztraubensäure	0,1	$0,114 \times 10^{-4}$	1,1	$0,125 \times 10^{-3}$
Milchsäure	100,0	$0,111 \times 10^{-1}$	11,5	$0,128 \times 10^{-2}$
Äpfelsäure	2,5	$0,186 \times 10^{-3}$	0,5	$0,373 \times 10^{-4}$
Fruktosediphosphat	0,03	$0,882 \times 10^{-6}$		
Glukose-6-Phosphat	3,0	$0,115 \times 10^{-3}$		
α-Glyzerophosphat	0,2	$0,116 \times 10^{-4}$		
Dihydroxyacetonphosphat	0,03	$0,14 \times 10^{-6}$		
Phosphoserin	1,2	$0,649 \times 10^{-4}$		
Phosphoäthanolamin	Spuren			
Cholesterin	12,0	$0,310 \times 10^{-3}$	224	0,0058
Cystein	2,29	$0,189 \times 10^{-3}$	1,47	$0,122 \times 10^{-3}$
Taurin	2,75	$0,219 \times 10^{-3}$		
Asparaginsäure	1,56	$0,117 \times 10^{-3}$	0,58	$0,429 \times 10^{-4}$
Threonin	4,30	$0,361 \times 10^{-3}$	2,02	$0,170 \times 10^{-3}$
Glutaminsäure	10,06	$0,684 \times 10^{-3}$	3,41	$0,232 \times 10^{-3}$
Prolin	10,90	$0,947 \times 10^{-3}$	2,36	$0,205 \times 10^{-3}$
Glykoll	28,60	$0,381 \times 10^{-2}$	1,74	$0,236 \times 10^{-3}$
Alanin	19,15	$0,215 \times 10^{-2}$	3,97	$0,496 \times 10^{-3}$
α-Amino-Buttersäure	1,00	$0,970 \times 10^{-4}$		
Valin	17,13	$0,146 \times 10^{-2}$	2,83	$0,242 \times 10^{-3}$
Methionin	2,12	$0,142 \times 10^{-3}$	0,85	$0,569 \times 10^{-4}$
Isoleucin	6,43	$0,490 \times 10^{-3}$	1,60	$0,122 \times 10^{-3}$
Leucin	13,80	$0,105 \times 10^{-2}$	1,91	$0,146 \times 10^{-3}$
Tyrosin	5,20	$0,287 \times 10^{-3}$	1,48	$0,817 \times 10^{-4}$
Phenylalanin	8,45	$0,511 \times 10^{-4}$	1,38	$0,835 \times 10^{-4}$
Histidin	1,28	$0,825 \times 10^{-4}$	1,42	$0,915 \times 10^{-4}$
Lysin	3,60	$0,246 \times 10^{-3}$	2,95	$0,202 \times 10^{-3}$
Ornithin	7,02	$0,532 \times 10^{-3}$		

Das bei diesen Untersuchungen ebenfalls verwendete sog. Actihaemyl-Leerpräparat stellt eine synthetische Lösung der wesentlichen analytisch ermittelten Komponenten in gleicher Konzentration dar (vergl. Tabelle B).

TABELLE B

Zusammensetzung einer entsprechend den Analysenwerten von Actihaemyl hergestellten Vergleichslösung

	mg%
NaCl	1250,0
KCl	502,5
NH_4Cl	1005,0
Na_2CO_3 x 10 H_2O	250,7
Na_2HPO_4 x 2 H_2O	175,5
$FeCl_3$ x 6 H_2O	1,7
$CuCl_2$ x H_2O	0,9
Glukose	185,0
Harnstoff	120,0
Harnsäure	5,0
α-Ketoglutarsäure Na	0,8
Brenztraubensäure Na	0,1
Äpfelsäure	2,5
Milchsäure	100,0
C_2H_5OH	10,0
Adenosinmonophosphat	0,7
Adenosindiphosphat	0,6
Cysteinsäure	2,27
Taurin	2,75
Asparaginsäure	1,53
D, L-Threonin	8,57
Glutaminsäure	10,00
Prolin	10,94
Glykokoll	26,88
Alanin	18,54
D, L-Amino-Buttersäure	2,01
Valin	17,09
D, L-Methionin	4,18
Isoleucin	6,43
Leucin	13,78
Tyrosin	5,26
Phenylalanin	8,42
D, L-Histidin	2,73
D, L-Lysin	7,78
D, L-Ornithin	14,36

III. ERGEBNISSE

1) GLUKOSEBELASTUNGEN BEI RATTEN

Aus Abbildung 1 und 2 sowie aus den Tabellen 1 und 2 ist zu erkennen, daß sowohl Actihaemyl als auch Actihaemyl-Leerpräparat zu einem deutlich beschleunigten Abfall der Blutglukosewerte bei intravenöser Belastung führen. Es fällt außerdem auf, daß der Wert, der 5 Minuten nach Infusion gewonnen wurde, bei mit Actihaemyl behandelten Tieren deutlich unterhalb der Daten der beiden anderen Gruppen liegt. Bei den Tieren, die mit 1 g Glukose/Ratte belastet wurden, ist der Unterschied des 5-Minuten-Wertes zwischen Actihaemyl und Leerpräparat sogar signifikant.

Sowohl bei Belastung mit 1 g Glukose/Ratte als auch bei 0,4 g Glukose/Ratte lagen die Glukose-Werte der mit Actihaemyl behandelten Tiere im Durchschnitt niedriger als die mit Leerpräparat behandelten, die Unterschiede sind jedoch nur bei 180 Minuten (0,4 g Glukose) signifikant. Die Unterschiede zwischen den Actihaemyl-behandelten und den mit Ringerlösung behandelten Tieren zeigen hingegen Signifikanz über einen wesentlich größeren Bereich. Es ist zu erwarten, daß bei einer größeren Versuchstierzahl auch die Differenzen zwischen Actihaemyl und Actihaemyl-Leerpräparat signifikant werden.

Der verminderte Anstieg des Blutzuckerspiegels bei den mit Actihaemyl behandelten Tieren ist wahrscheinlich auf eine schnellere Verteilung zurückzuführen, d.h. das Verteilungsvolumen der Glukose wird durch Actihaemyl erhöht (Wert 5 Minuten nach Glukose-Injektion). Die Belastung mit hohen Glukose-Dosen führt ferner zu einer maximalen Insulinausschüttung, so daß im weiteren Verlauf die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nicht mehr so deutlich sind.

2) INSULINANTIKÖRPERDIABETES

Zum Nachweis einer insulinartigen Aktivität ist das Verhalten des Blutglukosespiegels nach Insulin-Antikörperinjektion sehr gut geeignet. Bei den in der Versuchsanordnung zufällig verteilten Tieren wurde Insulinantiserum mit der jeweiligen Prüfsubstanz verabreicht. Wie aus Tabelle 3 und Abbildung 3 ersichtlich, zeigen die mit dem Leerpräparat behandelten Tiere nach 150 Minuten, 180 Minuten und 210 Minuten einen signifikant höheren Blutglukose-

spiegel als die mit Actihaemyl behandelten Tiere. Ab 120 Minuten sind die Differenzen zwischen Actihaemyl- und Ringer-behandelten Tieren hochsignifikant. Demgegenüber unterscheiden sich die Blutglukosewerte zwischen den mit dem Leerpräparat und den mit Ringerlösung behandelten Tieren zu keinem Zeitpunkt signifikant. Der Blutzuckerspiegel bleibt bei den mit Ringerlösung behandelten Tieren unverändert hoch, während er bei den mit Actihaemyl behandelten Tieren rasch absinkt und sich dann auf ein fast normales Niveau einstellt. Die Werte nach 120 Minuten (um 110 mg%) können bei dieser Gruppe von Tieren als völlig normal angesehen werden, da bereits die Narkose zur Blutzuckersteigerung in dieser Höhe führt.

3) NÜCHTERNBLUTZUCKER BEI EINWÖCHIGER BEHANDLUNG VON RATTEN MIT ACTIHAEMYL

Bei Tieren, die eine Woche lang mit täglich 2,0 ml Actihaemyl, bzw. Actihaemyl-Leerpräparat, bzw. Ringerlösung injiziert worden waren, konnte, wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist, ein Abfall des Nüchternblutzuckers festgestellt werden. Die mit Leerpräparat behandelten Tiere unterschieden sich statistisch nicht von den mit Ringerlösung behandelten Tieren. Die Actihaemyl-Gruppe unterschied sich dagegen statistisch signifikant von der Leerpräparat-Gruppe ($p < 0,001$) und der Ringergruppe ($p < 0,02$). Es muß in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß die Blutentnahme in diesen Versuchsgruppen bei nicht narkotisierten Tieren aus der Vena sublingualis erfolgte, während bei den übrigen Versuchen (Glukosebelastungen) der Nüchternblutzucker bei narkotisierten Tieren abgenommen wurde. Die etwas höheren Ausgangswerte innerhalb der letztgenannten Gruppen erklären sich zwanglos durch den sog. "Fesselungsdiabetes" (STÜBNER). Das Zwerchfell- und Leberglykogen zeigt nach einwöchiger Vorbehandlung keine signifikanten Unterschiede in den einzelnen Behandlungsgruppen.

4) ZWERCHFELL- UND LEBERGLYKOGENBESTIMMUNGEN BEI RATTEN

Gruppe A: Intraperitoneale Injektion von Actihaemyl (ohne Glukose, vgl. Tabelle 5 und 5a sowie Abbildung 4) führte in den vier untersuchten Zeiträumen (1, 2, 3 und 4 Stunden post injectionem) zur Erhöhung des Zwerchfellglykogens gegenüber Tieren, die nur Ringerlösung injiziert bekommen hatten. Die Differenzen waren nach einer Stunde signifikant ($p < 0,005$), nach zwei und vier Stunden nur knapp insignifikant ($p > 0,05$). Die Untersuchungen wurden in zwei Serien an zwei verschiedenen Tagen vorgenommen. An beiden Tagen bestand der gleiche Trend, jedoch waren bei der zweiten Serie die Einstundenwerte trotz der geringeren Zahl signifikant erhöht. Die übrigen Zeiträume waren knapp insignifikant. Das Leberglykogen war bei diesen Hungertieren nach Actihaemyl meist etwas erhöht. Die Differenzen gegenüber der Ringergruppe waren jedoch nicht signifikant. Der Blutglukosespiegel (Entnahme aus der Zungengrundvene beim nicht narkotisierten Tier) zeigte Streuungen im Bereich der Fehlerbreite.

Gruppe B: Bei dieser Untersuchungsreihe wurde dem Actihaemyl bzw. der Ringerlösung eine geringe Menge Glukose (2 %) zugesetzt, um möglicherweise die Glykogen-Differenzen zu steigern (vergl. Tabelle 6 und Abbildung 4). Der Blutglukosespiegel war nach ein und zwei Stunden leicht erhöht. Nach drei und vier Stunden wurde eine leichte Hypoglykämie beobachtet. In den ersten zwei Stunden nach Injektion war das Zwerchfellglykogen der mit Actihaemyl behandelten Tiere gegenüber den Ringerkontrollen etwas erniedrigt (nicht signifikant), nach drei Stunden etwas erhöht und nach vier Stunden signifikant höher (1,32 mg/g gegenüber 0,63 mg/g). Das Verhalten des Zwerchfellglykogens bei den mit Actihaemyl behandelten Tieren und zweiprozentigen Glukosezusatz weist darauf hin, daß bei diesen Tieren ein steter Anstieg des Zwerchfellglykogens während des Beobachtungszeitraums unabhängig vom Blutglukosespiegel erfolgt. Bei den mit Ringer-Glukose behandelten Tieren steigt dagegen das Zwerchfellglykogen parallel zum Glukosespiegel an und sinkt dann ebenfalls parallel zum Blutglukosespiegel wieder ab. Das Leberglykogen zeigt stärkere Fluktuation. Es ist die Tendenz einer Steigerung bei den Actihaemyl-Tieren gegenüber den Ringerkontrollen in der ersten und dritten Stunde nach Injektion zu erkennen (signifikant in der dritten Stunde), ohne daß daraus Schlußfolgerungen gezogen werden können.

Gruppe C: Zusatz von 20 % Glukose zur intraperitonealen Injektionslösung führt sowohl bei den mit Actihaemyl als auch bei den mit Ringerlösung behandelten Tieren zu einem raschen Anstieg des Zwerchfellglykogens (Ta-

belle 7, Abbildung 4). Der starke Anstieg ist auf eine Erhöhung des Blutglukosespiegels und die dadurch bedingte Insulinausschüttung zurückzuführen. Das Zwerchfellglykogen war bei den Ringer-Glukose-injizierten Tieren in allen geprüften Zeiträumen signifikant erhöht. Ein Teil der Tiere, die Actihaemyl und 20 % Glukose erhalten hatten, verstarb nach 1 1/2 bis 3 Stunden unter hypoglykämieähnlichen Symptomen. Aus diesem Grunde wurden bei einer zweiten Gruppe von Tieren die Untersuchungen noch einmal wiederholt (Tabelle 7a gibt sämtliche Werte). Dabei konnten die Ergebnisse der ersten Serie bestätigt werden. Die Tiere, die unter schockähnlichen Erscheinungen gestorben waren, hatten die niedrigsten Zwerchfellglykogenwerte, während die Tiere, die nicht verstorben waren, wesentlich höhere Zwerchfellglykogenwerte aufwiesen. Das in dieser Gruppe mitbestimmte Leberglykogen verhielt sich unspezifischer als das Zwerchfellglykogen; es war aber ebenfalls fast immer bei den mit Ringer-Glukose behandelten Tieren höher. Der Blutglukosespiegel (Entnahme aus der Zungengrundvene beim nicht narkotisierten Tier) war bei den Actihaemyl-Glukose-behandelten Tieren jedoch immer höher als bei den Ringer-Glukose-behandelten Tieren. Diese Differenzen sind in der dritten Stunde signifikant. Die Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den Ergebnissen der Reihe III/3.

Wie bereits oben erwähnt, verstarb ein Teil der Tiere in dieser Versuchsreihe (20 % Glukose in Actihaemyl intraperitoneal) in der zweiten und dritten Stunde der Beobachtungsperiode unter komatösen Erscheinungen. Auch die übrigen Tiere befanden sich gegenüber den mit Ringer-Glukose-behandelten Tiere in einem deutlich verschlechterten Allgemeinzustand. Die Symptome erinnerten an den hypoglykämischen Schock insulinbehandelter Tiere. Die Tiere fielen nach 60 bis 90 Minuten in einen somnolenten Zustand; sie lagen mit gesträubtem Fell in einer Ecke des Käfigs und reagierten auf Berührung meist mit Krämpfen und unkoordinierten Bewegungen. Nach 120 bis 180 Minuten verendete ein Teil der Tiere. Bei den Tieren, die überlebten, klangen die Symptome am Ende der vierten Stunde wieder ab.

Wie die Blutglukosebestimmungen zeigten, kann es sich um keinen hypoglykämischen Schock gehandelt haben. Es ist fraglich, ob die zusätzlich zur Glukose im Actihaemyl zugeführten Substanzen eventuell zu einem hyperosmolaren Koma geführt haben könnten. Die hier beschriebenen Ergebnisse wurden mehrfach reproduziert. Auch Leerpräparat-Glukose behandelte Tiere überlebten und zeigten keine Symptome.

5) FETT- UND GLUKOSE-BELASTUNGEN AN KANINCHEN

Die Versuchsanordnung unterschied sich von der der Ratten dadurch, daß zusätzlich zu Glukose auch noch Fett verabreicht wurde (Tabelle 8). Es soll vorangestellt werden, daß die Tiere, die Ringerlösung injiziert bekamen, Infonutrol sehr schlecht vertrugen. Von sechs Tieren verstarben vier in der zweiten oder dritten Stunde nach Injektion. Auch die restlichen beiden Tiere gingen nach Versuchsende ein. Die mit Actihaemyl und Leerpräparat injizierten Tiere waren dagegen nach zwölf Stunden wieder vollkommen munter und zeigten keinerlei Belastungssymptome. Die Blutzuckerwerte differierten deutlich zwischen den mit Ringer-Lösung und den mit Actihaemyl bzw. Actihaemyl-Leerpräparat behandelten Tieren. Allerdings war diesmal der Blutzucker der mit Leerpräparat behandelten Tiere geringfügig unterhalb dem der Actihaemyl-Tiere. An diesem Verhalten änderte sich während der vierstündigen Versuchsdauer nichts. Bei Kaninchen muß man jedoch von vornherein mit gewissen atypischen Reaktionen rechnen. Diese Tiere besitzen ein besonders labiles vegetatives Nervensystem, was z.B. durch einen raschen und starken Blutglukoseanstieg in der Narkose zum Ausdruck kommt (STÜBNER).

Sowohl die freien Fettsäuren als auch Triglyceride stiegen bei den mit Actihaemyl behandelten Tieren schwächer an und kehrten rascher zum Ausgangsniveau zurück als bei den mit Ringerlösung behandelten Tieren. Auch hier zeigte sich kein unterschiedlicher Einfluß von Actihaemyl und Leerpräparat. Beim Blut-Aminosäuren-Spiegel ergab sich keine Differenz zwischen den einzelnen Gruppen. Der Aminosäuregehalt der Infusionslösung war zu gering um zu einem nennenswerten Unterschied zu führen.

6) BLUTGLUKOSEWERTE NACH EINWÖCHIGER BEHANDLUNG VON FREIWILLIGEN VERSUCHSPERSONEN MIT ACTIHAEMYL

Die Blutentnahme am ersten Tag der Versuchsperiode erfolgte noch vor Actihaemyl-Injektion, so daß dieser Wert sowie der Wert am Tag 0 als Vorperiode gewertet werden können. Nach einer Actihaemyl-Injektion (Tag 2) war noch kein Einfluß auf den Blutglukosespiegel festzustellen. Nach der zweiten Injektion (Tag 3) kam es zu einem langsamen Absinken des Nüchternblutzuckers mit einem Minimum am fünften Tag (nach vier Injektionen). Trotz weiterer

drei Injektionen stiegen die Blutglukosewerte am sechsten Tag wieder zum Niveau der Vorperiode an. Die Werte an den Tagen 0, 1, 2, 6, 9 unterscheiden sich signifikant von den Werten am fünften Tag (Tabelle 9). Die Unterschiede zwischen den Werten am vierten Tag und den Werten der Vorperiode sind knapp insignifikant. Ebenso war der Unterschied am zweiten Tag zwischen Wert vor Actihaemyl-Injektion und Wert eine Stunde nach Injektion nicht ganz signifikant ($t = 1,92$). Am fünften Tag wurde nochmals der Blutzuckerspiegel in der gleichen Weise bestimmt. Die Actihaemyl-Injektion bewirkte in diesem Fall (am Blutzuckerminimum) jedoch kein weiteres Absinken des Blutglukosespiegels.

7) FERMENTWERTE (SGOT UND SLDH) NACH VIERTÄGIGER BEHANDLUNG VON FREIWILLIGEN VERSUCHSPERSONEN MIT ACTIHAEMYL (Tabelle 10)

Die leichte Erhöhung der Fermentwerte am ersten Tag liegt im Bereich der Fehlerbreite. Am zweiten und dritten Tag liegen die Fermentwerte unter dem Ausgangsniveau, wobei die Differenz bei SLDH zwischen dem Tag vor der ersten Injektion (0. Tag) und dem dritten Tag signifikant ist.

Die Ergebnisse sind aus den folgenden 12 Tabellen und 4 Abbildungen zu ersehen.

Folgende Abkürzungen gelten für die nachstehenden Tabellen:

- n = Anzahl der bei den einzelnen Versuchsreihen verwendeten Tiere oder Versuchspersonen
- $\bar{x}$ = Mittelwert
- s = Streuung
- t = Standardwert (für kleine Stichproben)
- p = Wahrscheinlichkeit

TABELLE 1

Einfluß von Actihaemyl bzw. Leerpräparat und Ringer auf den Blutglukoseabfall bei intravenöser Glukosebelastung (20 % Glukose in Actihaemyl, bzw. in Leerpräparat, bzw. in Ringer gelöst). Injektion von 2 ml Lösung innerhalb 2 Minuten.

Zeit (Min.)	Actihaemyl		Leerpr.		Ringer-L.		t (p)		
	$\bar{x}$ mg%	S	$\bar{x}$ mg%	S	$\bar{x}$ mg%	S	Actih. / Leerpr.	Actih. / Ringer-L.	Leerpr. / Ringer-L.
0	60		60		69				
5	349	130,4	391	123,0	384	94,2	0,82 (>0,4)	0,755 (>0,4)	0,158 (>0,8)
15	304	112,4	323	89,8	352	87,5	0,575 (>0,5)	1,17 (>0,2)	0,80 (>0,4)
30	266	95,8	284	80,8	321	72,7	0,5 (>0,6)	1,58 (>0,1)	1,18 (>0,2)
45	222	50,3	244	65,5	295	70,0	0,93 (>0,3)	2,92 (<0,005)	1,84 (>0,05)
60	174	56,0	215	56,0	266	77,6	1,28 (>0,2)	2,65 (<0,01)	1,70 (>0,1)
75	165	43,2	186	45,4	246	81,0	1,16 (>0,2)	3,07 (<0,005)	2,35 (<0,025)
90	149	41,5	159	36,7	221	68,5	0,63 (>0,5)	3,05 (<0,005)	2,71 (<0,01)
105	128	40,6	146	34,1	212	80,0	1,18 (>0,2)	3,29 (<0,001)	2,63 (<0,01)
120	115	37,8	133	32,3	189	73,2	1,26 (>0,2)	3,02 (<0,005)	2,43 (<0,02)
135	106	36,8	123	32,9	185	76,9	1,19 (>0,2)	3,21 (<0,001)	2,56 (<0,01)
150	95	36,4	119	32,0	169	72,5	1,57 (>0,1)	3,16 (<0,001)	2,19 (<0,025)
165	86	37,2	109	28,2	166	72,1	1,72 (>0,05)	3,41 (<0,001)	2,56 (<0,01)
180 Vene	79	32,8	102	30,5	158	71,2	2,26 (<0,025)	3,35 (<0,001)	2,50 (<0,01)
Herz	94	33,3	121	40,0	175	74,7	1,82 (>0,05)	3,48 (<0,001)	2,24 (<0,025)
Mittl. Gewicht in g	226		242		262				
Anzahl der Tiere	13		13		13				

TABELLE 2

Einfluß von Actihaemyl auf den Blutglukoseabfall bei intravenöser Glukosebelastung (50 % Glukose in Actihaemyl, bzw. in Leerpräparat, bzw. in Ringer gelöst). Injektion von 2 ml Lösung innerhalb 2 Minuten.

Zeit (Min.)	Actihaemyl $\bar{x}$ mg%	Actihaemyl S	Leerpr. $\bar{x}$ mg%	Leerpr. S	Ringer-L. $\bar{x}$ mg%	Ringer-L. S	t (p) Actih./Leerpr.	t (p) Actih./Ringer-L.	t (p) Leerpr./Ringer-L.
0	58		62		67				
5	885	175,0	1062	166,0	996	192,8	2,65 (<0,01)	1,59 (>0,1)	0,97 (>0,4)
15	651	126,2	734	145,4	824	185,9	1,55 (>0,1)	2,85 (<0,005)	1,41 (>0,1)
30	543	115,0	625	103,8	723	164,0	1,93 (>0,05)	5,45 (<0,001)	3,26 (<0,001)
45	483	114,6	555	91,0	661	161,7	1,75 (>0,05)	3,34 (<0,001)	2,07 (<0,025)
60	417	127,6	490	81,5	597	149,5	1,74 (>0,05)	3,40 (<0,001)	2,31 (<0,025)
75	390	133,9	440	75,7	549	155,3	1,17 (>0,2)	2,88 (<0,005)	2,31 (<0,025)
90	353	134,9	388	85,1	503	151,1	0,79 (>0,4)	2,76 (<0,01)	2,44 (<0,020)
105	321	150,8	352	89,2	448	142,3	0,64 (>0,5)	2,29 (<0,025)	2,21 (<0,025)
120	289	148,5	320	94,5	410	137,0	0,64 (>0,5)	2,25 (<0,025)	2,01 (<0,05)
135	264	145,2	287	98,0	364	128,0	0,47 (>0,6)	1,95 (>0,05)	1,79 (>0,05)
150	247	147,7	271	104,5	347	125,0	0,48 (>0,6)	1,95 (>0,05)	1,71 (>0,05)
165	217	130,8	259	103,0	323	121,0	0,91 (>0,3)	2,24 (<0,025)	1,51 (>0,1)
180 Vene	207	120,5	252	105,5	307	109,0	1,01 (>0,3)	2,31 (<0,025)	1,36 (>0,1)

Mittl. Gewicht in g	243		275		241
Anzahl der Tiere	14		14		14

TABELLE 3

Wirkung von Actihaemyl auf den Antikörper-induzierten Blutglukoseanstieg bei Ratten. 2 Tage Vorbehandlung mit 3 ml Actihaemyl oder Leerpräparat oder Ringerlösung i.p., dann i.v. Injektion von 3 ml Antiserum und 2 ml zu prüfender Lösung.

Zeit (Min.)	Actihaemyl $\bar{x}$ mg%	Actihaemyl s	Leerpr. $\bar{x}$ mg%	Leerpr. s	Ringer-L. $\bar{x}$ mg%	Ringer-L. s	t (p) Actih./Leerpr.	t (p) Actih./Ringer-L.	t (p) Leerpr./Ringer-L.
0	88	9,73	92	9,11	92	10,05			
15	149	14,46	135	16,31	142	17,49	1,88 (>0,05)	0,92 (>0,3)	0,85 (>0,4)
30	165	24,88	169	21,24	170	19,67	0,36 (>0,7)	0,48 (>0,6)	0,11 (>0,9)
45	162	36,79	175	33,96	163	20,57	0,76 (>0,4)	0,07 (>0,9)	0,89 (>0,3)
60	141	39,38	153	30,0	146	28,11	0,7 (>0,4)	0,41 (>0,6)	0,50 (>0,6)
90	127	34,22	123	17,15	139	17,61	0,3 (>0,7)	0,94 (>0,3)	1,90 (>0,05)
120	111	14,46	122	16,5	134	15,26	1,46 (>0,1)	3,60 (<0,001)	1,56 (>0,1)
150	102	10,96	122	20,54	136	22,16	2,54 (<0,02)	4,12 (<0,001)	1,35 (>0,1)
180	103	13,19	130	28,95	134	19,52	2,53 (<0,02)	3,95 (<0,001)	0,34 (>0,7)
210	104	14,70	133	31,0	137	17,14	2,50 (<0,02)	4,34 (<0,001)	0,34 (>0,7)
240 Vene	114	20,57	137	36,0	142	13,75	1,64 (>0,1)	3,43 (<0,001)	0,39 (>0,7)
Herz	122	18,49	147	32,85	156	13,98	1,97 (>0,05)	4,40 (<0,001)	0,78 (>0,4)

Mittl. Gewicht in g	191		197		194,5
Anzahl der Tiere	10		9		10

TABELLE 4

Einfluß von einwöchiger Vorbehandlung mit Actihaemyl oder Leerpräparat oder Ringerlösung (täglich 2 ml intraperitoneal) auf den Nüchternblutzucker, das Leberglykogen und das Zwerchfellglykogen von Ratten

	Anzahl n	Durchschnittl. Gewicht	Blutzucker mg% ± S	Lebergewicht	Glykogen in 1 g Leber mg ± S	Zwerchfell-Gewicht	Glykogen in 1 g Zwerchfell mg ± S
Actihaemyl	16	125 g	57,9 ± 9,0	4,68 g	2,50 ± 1,87	0,48 g	1,65 ± 0,54
Leerpräparat	16	134 g	71,9 ± 15,1	5,15 g	2,60 ± 1,45	0,53 g	1,44 ± 0,82
Ringerlösung	16	130 g	68,2 ± 14,4	4,93 g	2,20 ± 1,90	0,49 g	1,66 ± 0,55
t(p) Actihaemyl / Leerpr.			3,08 (<0,001)		0,164 (>0,8)		0,83 (>0,4)
t(p) Actihaemyl / Ringer-L.			2,35 (<0,02)		0,47 (>0,6)		0,05 (>0,95)
t(p) Leerpr. / Ringer-L.			0,69 (>0,4)		0,655 (>0,5)		0,85 (>0,4)

TABELLE 5

Einfluß von Actihaemyl-Injektionen (4 ml i.p.) auf das Leberglykogen und das Zwerchfellglykogen bei nüchternen Ratten

	Anzahl n	Durchschnittl. Gewicht	Blutzucker mg% $\bar{x}$ S	Lebergewicht	Glykogen (mg) in 1 g Leber $\bar{x}$ S	Zwerchfell-Gewicht	Glykogen (in mg) pro 1 g Zwerchfell $\bar{x}$ S
1. Std.							
Actihaemyl	12	102 g	53,5 ± 8,86	4,13 g	0,66 ± 0,56	0,444 g	1,51 ± 0,53
Ringerlösung	12	106 g	54,7 ± 8,25	4,10 g	0,33 ± 0,34	0,45 g	0,92 ± 0,24
t(p) Actihaem. / Ringer-L.			0,327 (>0,7)		1,65 (>0,1)		3,35 (<0,01)
2. Std.							
Actihaemyl	12	107 g	50,9 ± 11,92	3,87 g	0,97 ± 1,34	0,45 g	1,25 ± 0,47
Ringerlösung	12	105 g	59,7 ± 11,7	4,02 g	0,44 ± 0,62	0,45 g	0,98 ± 0,24
t(p) Actihaem. / Ringer-L.			1,75 (>0,05)		1,24 (>0,2)		1,78 (>0,05)
3. Std.							
Actihaemyl	9	108 g	58,1 ± 9,6	3,86 g	0,23 ± 0,21	0,47 g	1,21 ± 0,22
Ringerlösung	9	105 g	50,3 ± 5,53	4,04 g	0,37 ± 0,32	0,45 g	0,95 ± 0,32
t(p) Actihaem. / Ringer-L.			2,0 (>0,05)		1,14 (>0,3)		1,89 (>0,05)
4. Std.							
Actihaemyl	9	103 g	58,3 ± 9,58	4,11 g	0,448 ± 0,365	0,49 g	1,21 ± 0,36
Ringerlösung	9	97 g	50,2 ± 6,16	3,65 g	0,18 ± 0,07	0,43 g	1,01 ± 0,28
t(p) Actihaem. / Ringer-L.			2,08 (>0,05)		2,04 (>0,05)		1,24 (>0,2)

TABELLE 5 a

Einfluß von Actihaemyl-Injektionen (4 ml i.p.) auf das Zwerchfellglykogen bei nüchternen Ratten

Zeit	Actihaemyl			Ringerlösung		
	Anzahl n	Glykogen in 1 g Zwerchfell mg	S	Anzahl n	Glykogen in 1 g Zwerchfell mg	S
1. Std.	24	1,39	± 0,494	23	1,06	± 0,294
			$t(p)\ \frac{\text{Actihaemyl}}{\text{Ringerl.}}$: 2,70 (<0,005)			
2. Std.	24	1,25	± 0,387	23	1,04	± 0,342
			$t(p)\ \frac{\text{Actihaemyl}}{\text{Ringerl.}}$: 1,93 (>0,05)			
3. Std.	21	1,20	± 0,287	20	1,08	± 0,367
			$t(p)\ \frac{\text{Actihaemyl}}{\text{Ringerl.}}$: 1,13 (>0,2)			
4. Std.	21	1,38	± 0,394	20	1,12	± 0,424
			$t(p)\ \frac{\text{Actihaemyl}}{\text{Ringerl.}}$: 1,98 (>0,05)			

TABELLE 6

Einfluß von Actihaemyl-Injektionen (4 ml i.p.) auf das Leberglykogen und das Zwerchfellglykogen bei nüchternen Ratten unter Zusatz von 2 % Glukose (= 80 mg Glukose/Ratte)

	Anzahl n	Durchschnittsgewicht	Blutzucker mg% $\bar{x}$ S	Lebergewicht	Glykogen in 1 g Leber (mg) $\bar{x}$ S	Zwerchfell-Gewicht	Glykogen in 1 g Zwerchf. (in mg) $\bar{x}$ S
1. Std.							
Actihaemyl	6	119 g	96 ± 2,31	4,40 g	2,37 ± 1,11	0,47 g	1,03 ± 0,295
Ringerlösung	6	117 g	100 ± 5,39	4,41 g	1,37 ± 0,48	0,44 g	1,62 ± 0,89
t(p) Actihaem. / Ringerl.			1,52 (>0,1)		1,86 (>0,05)		1,41 (>0,1)
2. Std.							
Actihaemyl	6	113 g	91,2 ± 1,68	4,17 g	0,99 ± 0,71	0,44 g	1,19 ± 0,36
Ringerlösung	6	111 g	93 ± 2,17	4,21 g	1,84 ± 0,81	0,47 g	1,79 ± 0,67
t(p) Actihaem. / Ringerl.			1,47 (>0,1)		1,78 (>0,1)		1,76 (>0,1)
3. Std.							
Actihaemyl	6	126,8 g	65,7 ± 4,58	4,56 g	1,14 ± 0,31	0,61 g	1,18 ± 0,33
Ringerlösung	6	137,7 g	54,4 ± 4,91	5,37 g	0,66 ± 0,58	0,63 g	0,98 ± 0,19
t(p) Actihaemyl / Ringerl.			3,6 (<0,001)		2,77 (<0,01)		1,29 (>0,20)
4. Std.							
Actihaemyl	6	145,8 g	56,5 ± 5,48	5,37 g	0,58 ± 0,29	0,64 g	1,32 ± 0,27
Ringerlösung	6	137,5 g	57,6 ± 6,08	4,91 g	0,62 ± 0,45	0,58 g	0,63 ± 0,44
t(p) Actihaem. / Ringerl.			0,3 (>0,7)		0,418 (>0,8)		3,01 (<0,01)

TABELLE 7

Einfluß von Actihaemyl-Injektion (4 ml i.p.) auf das Leberglykogen und das Zwerchfellglykogen bei nüchternen Ratten unter Zusatz von 20 % Glukose (= 800 mg Glukose/Ratte)

	Anzahl n	Durchschnittsgewicht	Blutzucker mg% $\bar{x}$ S	Lebergewicht	Glykogen in 1 g Leber (mg) $\bar{x}$ S	Zwerchfellgewicht	Glykogen in 1 g Zwerchfell (in mg) $\bar{x}$ S
1. Std.							
Actihaemyl	12	105 g	649 ± 135,5	4,07 g	6,04 ± 3,91	0,49 g	1,05 ± 0,53
Ringerlösung	12	108 g	533 ± 238,3	4,13 g	10,89 ± 5,05	0,43 g	2,05 ± 14,98
t(p) Actih. / Ringerl.			1,41 (>0,1)		2,53 (<0,01)		2,1 (<0,025)
2. Std.							
Actihaemyl	11	109 g	420 ± 216	4,24 g	9,696 ± 6,03	0,47 g	1,53 ± 1,19
Ringerlösung	12	104 g	338 ± 137,85	4,62 g	9,16 ± 4,47	0,46 g	3,11 ± 1,07
t(p) Actih. / Ringerl.			1,05 (>0,3)		0,232 (>0,8)		3,2 (<0,001)
3. Std.							
Actihaemyl	9	92 g	454 ± 181,8	3,78 g	7,16 ± 8,49	0,41 g	1,45 ± 1,44
Ringerlösung	9	108 g	229 ± 191,5	4,32 g	11,49 ± 4,24	0,48 g	3,34 ± 0,93
t(p) Actih. / Ringerl.			2,41 (<0,025)		1,29 (>0,2)		3,12 (<0,005)
4. Std.							
Actihaemyl	3	114 g	183 ± 67,1	4,51 g	4,50 ± 0,50	0,54 g	1,93 ± 0,22
Tote (Actih.)	7			3,41 g	0,76 ± 0,64	0,43 g	0,23 ± 0,15
Ringerlösung	9	103 g	157 ± 79,1	4,23 g	10,62 ± 7,27	0,49 g	2,73 ± 1,25
t (p) Actih. / Ringerl.			0,47 (>0,6)		1,9 (>0,05)		1,01 (>0,3)
t(p) Actih.-Tote / Ringerl.					4,77 (<0,001)		4,77 (<<0,001)

TABELLE 7 a

Einfluß von Actihaemyl-Injektionen (4 ml i. p.) auf das Zwerchfellglykogen von nüchternen Ratten unter Zusatz von 20 % Glukose (= 800 mg Glukose/Ratte)

Zeit	Actihaeyml Anzahl n	Actihaeyml Glykogen in 1 g Zwerchfell mg	Actihaeyml S	Ringerlösung Anzahl n	Ringerlösung Glykogen in 1 g Zwerchfell mg	Ringerlösung S
1. Std.	24	1,12	± 0,57	24	2,42	± 1,4
			$t(p)\ \frac{A}{R}$: 4,1 (< 0,001)			
2. Std.	20	1,97	± 1,19	24	3,27	± 1,55
			$t(p)\ \frac{A}{R}$: 2,85 (< 0,005)			
3. Std.	18	1,86	± 1,19	21	3,78	± 1,28
			$t(p)\ \frac{A}{R}$: 4,7 (< 0,001)			
4. Std.	13	2,63	± 1,16	21	3,28	± 1,05
Tote Tiere	14	0,32	± 0,16			
			$t(p)\ \frac{A}{R}$: 1,21 (> 0,2)			
			$t(p)\ \frac{A\ tote}{R}$: 10,0 (< 0,001)			

TABELLE 8

Einfluß von Actihaemyl und Leerpräparat (20 ml i.v.) auf das Verhalten der Konzentration von Glukose, freien Fettsäuren, Triglyceriden und Aminosäuren im Blut bei i.v. Belastung mit 25 ml Infonutrol (enthaltend 40 % Glukose)

Zeit (Min.)	Glucose mg%						Fettsäuren (mM)						Triglyceride (mg%)						Aminosäuren (mg%)					
	Actihaem.		Leerpräp.		Ringerl.		Actihaem.		Leerpräp.		Ringerl.		Actihaem.		Leerpräp.		Ringerl.		Actihaem.		Leerpräp.		Ringerl.	
	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S
0	125	24,5	130	38,2	157	58,2	1,70	0,53	1,78	0,5	210	0,54	108	27	128	15	147	30	39,4	2,30	38,4	5,52	37,5	3,05
15	500	60,1	469	96,7	605	143,4	3,21	0,76	3,47	0,65	4,27	1,38	709	386	903	148	883	297	40,1	2,35	40,0	3,8	36,5	3,2
30	414	68,1	381	87,5	540	152,5	3,81	1,01	3,54	0,93	4,76	1,98	738	276	847	123	1098	424	38,6	2,7	38,5	3,39	37,1	4,15
60	345	75,2	292	63,7	491	147	3,25	0,93	3,36	1,19	4,27	1,67	631	255	792	219	866	264	36,9	2,78	38,6	3,13	38,4	5,96
90	282	85,2	257	36,9	417	83,3													36,3	2,04	36,8	2,44	39,5	8,08
120	246	76,8	240	44,1	378	65,9	3,03	0,81	3,19	1,40	4,23	1,28	521	218	641	285	757	259	36,4	5,1	36,1	2,21	32,8	2,58
150	237	73	229	41,3	328	62,6													36,0	6,65	35,9	3,14	32,9	2,25
180	228	72,8	211	43	325	70,9	2,81	1,02	2,64	1,23	3,51	0,7	476	231	514	346	680	312	35,6	5,96	36,4	3,44	32,9	2,24
210	215	74,7	200	45,4	276	65													34,7	4,47	35,2	2,19	31,8	0,75
240	205	75,5	198	46	266	73	2,51	1,54	2,35	1,35	2,36	0,28	358	228	404	311	659	303	31,9	4,36	35,0	3,81	32,9	0

Anzahl der Tiere: Actihaemyl 5

Leerpräparat 6

Ringer 6 (bei 90 Minuten: 5, bei 120 Minuten: 4, bei 150 und 180: 3, bei 210 und 240: 2)

TABELLE 9

Einfluß von 7-tägiger Actihaemylbehandlung (20 ml/Tag) auf den Nüchternblutglukosespiegel von 10 freiwilligen Versuchspersonen (Blutentnahme vor Actihaemyl-Injektion)

Behandlungstag	Injektion	Blutglukosekonzentration mg%	t-Test (innerhalb gegen 5) t	p
0	-	62,5 ± 6,1	2,30	< 0,05
1	x	63,2 ± 6,0	2,63	< 0,03
2	x	64,3 ± 7,4	2,59	< 0,03
3	x	59,7 ± 7,9	2,09	> 0,05
4	x	58,6 ± 7,6	1,49	> 0,20
5	x	53,6 ± 10,4	-	-
6	x	61,7 ± 8,0	2,35	< 0,05
7	x	61,0 ± 9,2	1,92	> 0,05
8	-	- -	-	-
9	-	61,5 ± 8,8	2,37	< 0,05
Jeweils 1 Std. nach Actihaemylinjektion Behandlungstag				
2	x	60,9 ± 10,0	1,94	> 0,05
5	x	53,9 ± 9,6	-	-

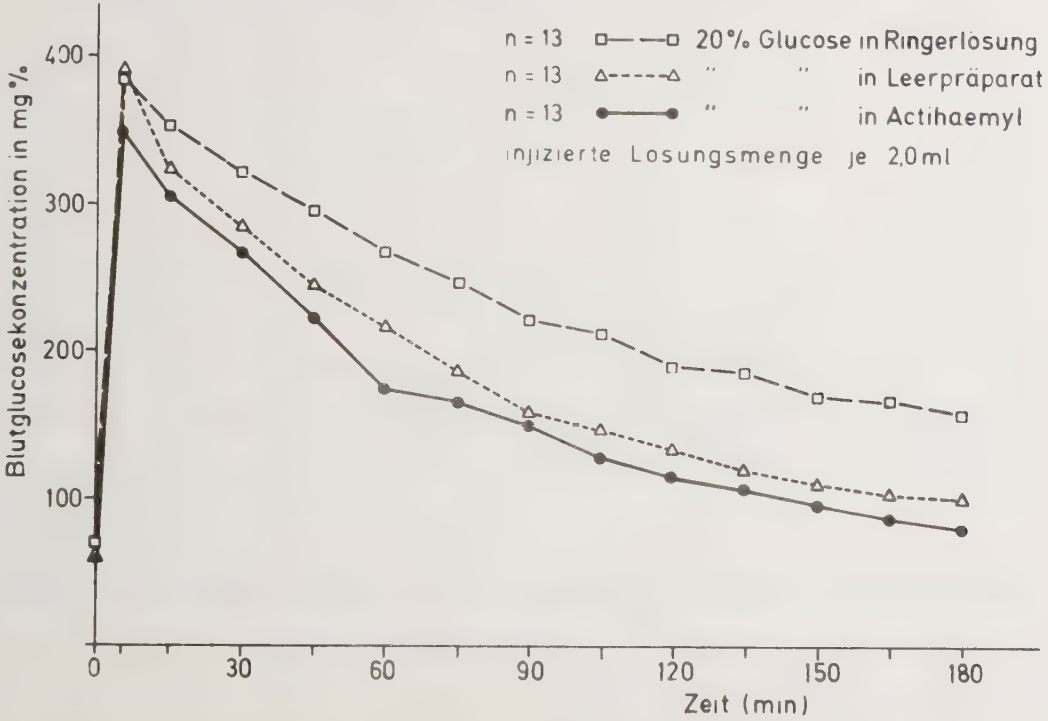
TABELLE 10

Einfluß von Actihaemyl-Injektion (20 ml pro Tag) auf SGOT und SLDH bei 10 gesunden freiwilligen Versuchspersonen

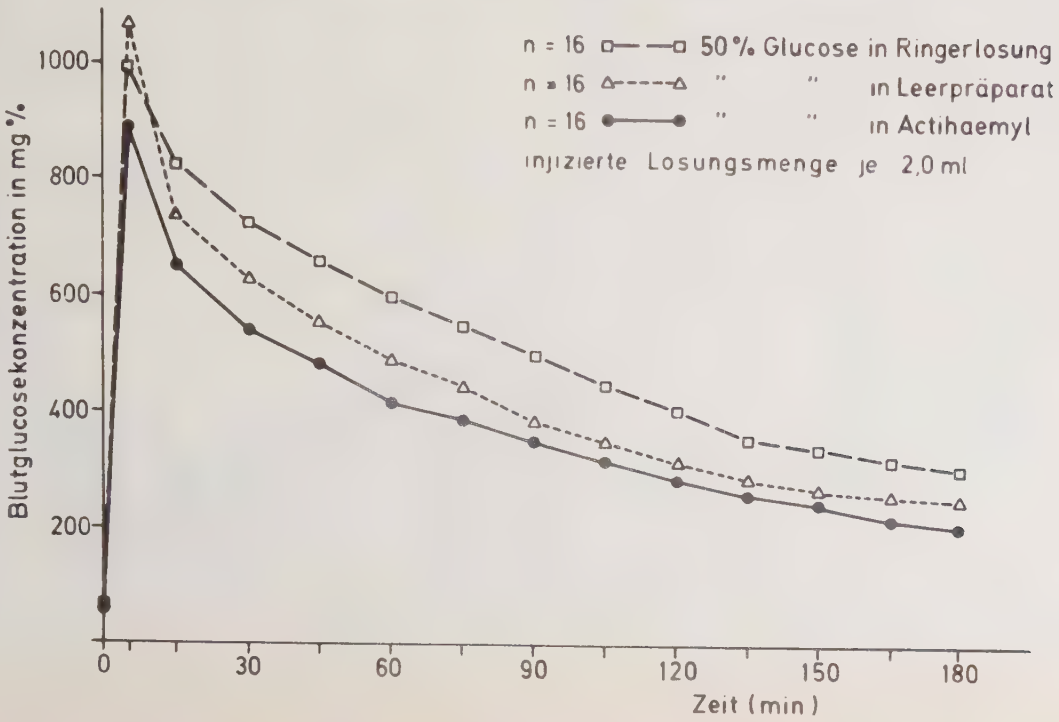
	0. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag
SGOT I.E.	17,4 ± 1,9	21,0 ± 2,3	17,0 ± 1,5	15,1 ± 0,7
SLDH I.E.	139 ± 11	143 ± 19	123 ± 7,9	114 ± 10

$$\text{SLDH} \quad \frac{\text{0. Tag}}{\text{3. Tag}} \quad : < p \; 0,05$$

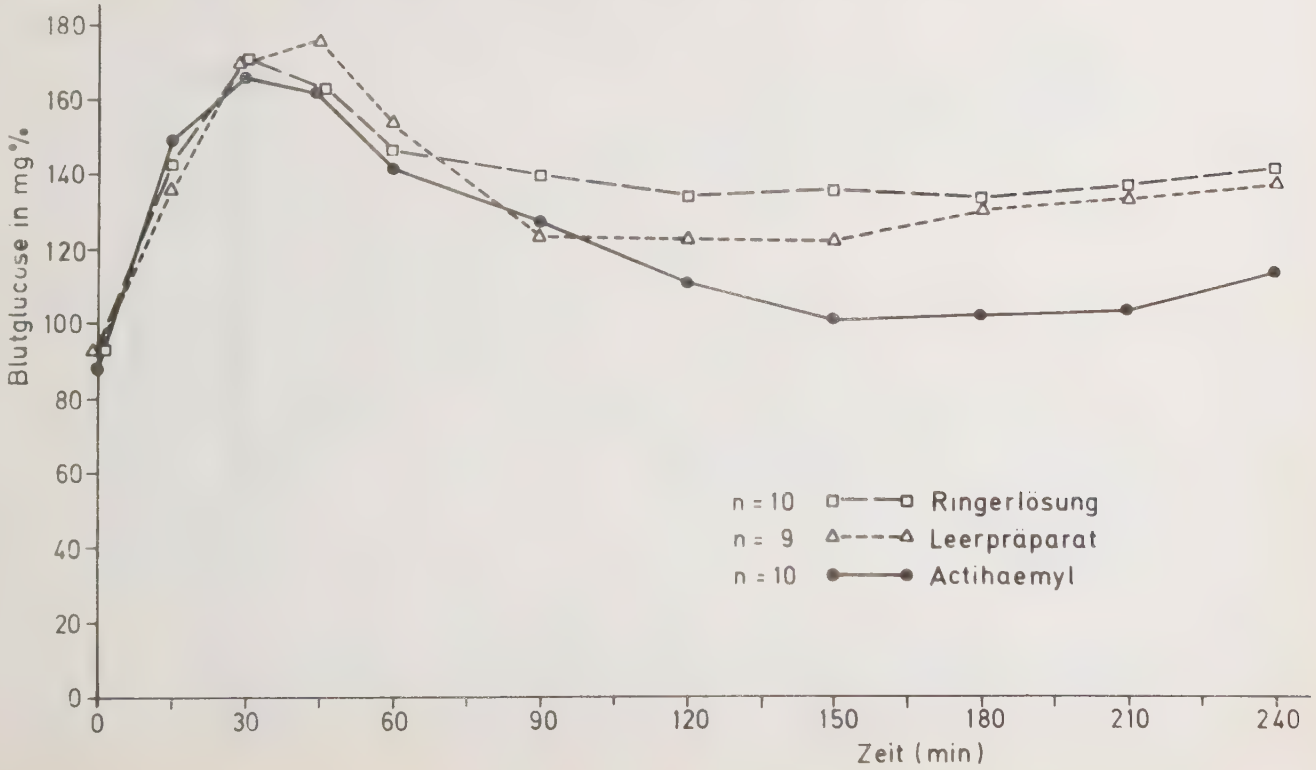
Einfluss von Actihaemyl bzw. Leerpräparat auf den Blutglucoseabfall bei intravenöser Glucosebelastung mit 20%ige Glucoselösung (Lösungsmittel: Actihaemyl, Leerpräparat oder Ringerlösung)



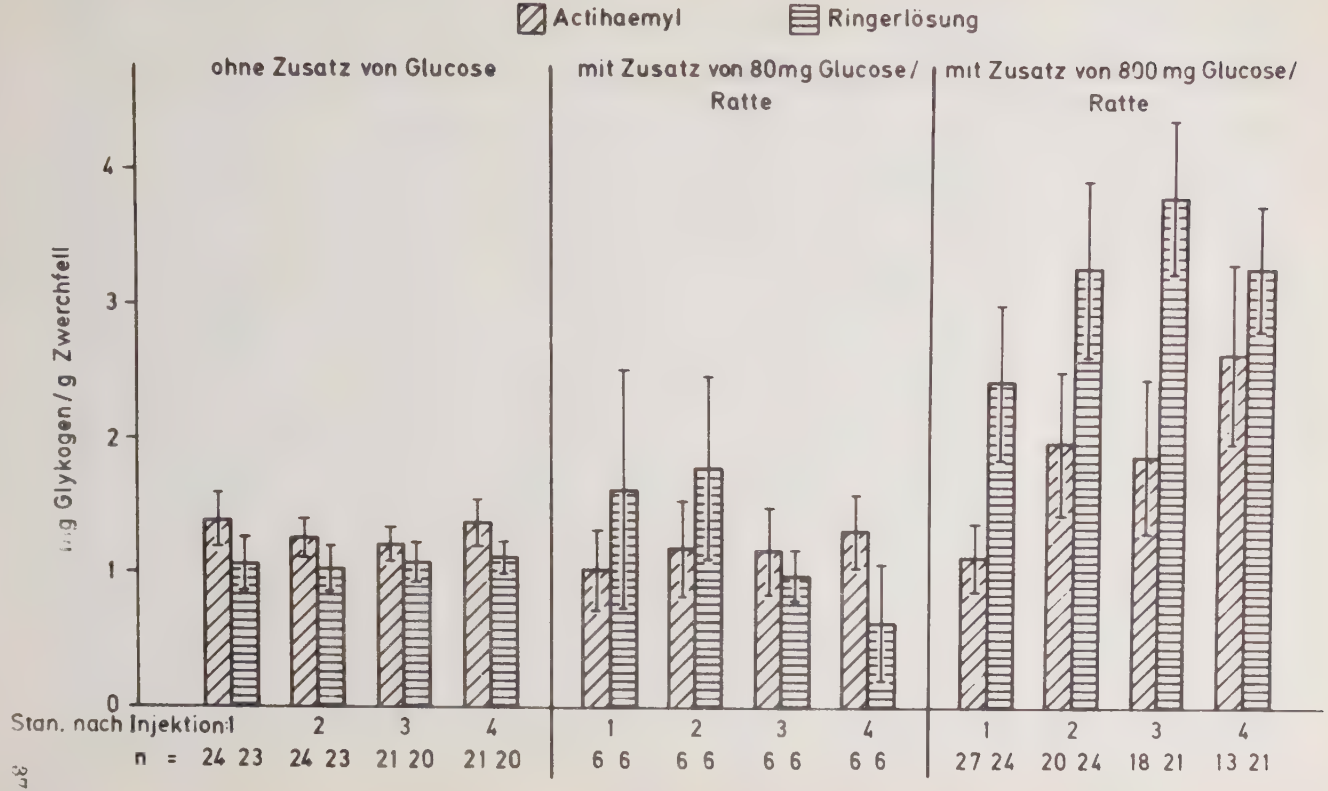
Einfluss von Actihaemyl bzw. Leerpräparat auf den Blutglucoseabfall bei intravenöser Glucosebelastung mit 50%ige Glucoselösung (Lösungsmittel: Actihaemyl, Leerpräparat oder Ringerlösung)



Einfluss von Actihaemyl bzw. Leerpräparat (2ml) auf den antikörperinduzierten Blutglucoseanstieg bei Ratten



Einfluss von Actihaemylinjektion (4 ml intraperitoneal) auf das Zwerchfellglykogen bei nüchternen Ratten



IV. DISKUSSION

Die Ergebnisse der vorgelegten Untersuchungen zeigen, daß dem Blutextrakt Actihaemyl in bezug auf seine Beeinflussung des Glukosestoffwechsels eine Insulin-ähnliche Aktivität zugesprochen werden kann. Auch das Leerpräparat, das die wesentlichen anorganischen und organischen Salze in der Konzentration enthält, wie sie im Actihaemyl vorliegen, kann eine Insulin-ähnliche Wirkung haben. Diese Wirkung ist aber nicht an allen Modellen nachweisbar und wesentlich schwächer als die des Blutextraktes.

Im einzelnen erwies sich bei Glukose-Belastungen an Ratten mit 400 mg bzw. mit 1000 mg Glukose/Ratte, daß Actihaemyl i.v. den Blutglukoseabfall beschleunigt und, daß das Leerpräparat eine ähnliche aber schwächere Wirkung zeigte. Es kann dabei angenommen werden, daß die organischen Salze, insbesondere die organischen Säuren und Aminosäuren im Leerpräparat einen Einfluß auf den intrazellulären Transport der Glukose ausüben, so z.B. gewisse Aminosäuren oder auch die Zitronensäure. Zu diskutieren wäre auch ein Einfluß der im Leerpräparat enthaltenen Aminosäuren auf die endogene Insulinsekretion (FLOYD et al.). Diese Frage bedarf zu ihrer weiteren Klärung aber noch nähere Untersuchungen.

Die Förderung des Glukosetransportes in die Zelle durch Actihaemyl geht aus zwei weiteren Beobachtungen hervor:

1.) Der verminderte Anstieg des Blutzuckerspiegels in den ersten fünf Minuten bei der Actihaemyl-Gruppe spricht für eine schnellere Verteilung der Glukose, d.h. das Verteilungsvolumen der Glukose wird nur durch Actihaemyl, nicht aber durch das Leerpräparat erhöht.

2.) Die mit Antiinsulinserum behandelten Tiere zeigen bei gleichzeitiger Actihaemylzugabe eine geringere Blutzuckererhöhung als die Kontrollen mit Leerpräparat und Ringerlösung. Außerdem stellt sich die Normalisierung der Blutglukosewerte bei der Actihaemyl-Gruppe schon nach etwa zwei Stunden ein, während die Kontrollen der mit Leerpräparat oder mit Ringerlösung behandelten Tiere noch nach vier Stunden erhöhte Werte zeigen. Gerade dieser Versuch beweist eine echte ILA-Wirkung des Actihaemyl; er führt auch zum Verständnis der gelegentlich beobachteten Therapieerfolge bei erhöhter Insulinresistenz von Diabetikern, wobei nach der Actihaemylbehandlung eine Einsparung an exogenen Insulineinheiten möglich wurde.

Die einwöchige Behandlung von Ratten mit tgl. 2 ml Actihaemyl i.p./kg zeig-

te eine statistisch signifikante Erniedrigung des Nüchternblutzuckers, während Leerpräparat und Ringergruppe keine signifikanten Unterschiede brachten. Diese Wirkung kann sowohl mit einer Änderung der Glukoseverteilung als auch mit einem erhöhten Glukoseumsatz erklärt werden. Parallele Versuche mit ILA-Präparationen stehen nicht zur Verfügung bzw. sind uns nicht bekanntgeworden. Immerhin ließe sich dieser Effekt auf den Nüchternblutzucker auch als ILA-Wirkung deuten. Ein Kontrollversuch mit freiwilligen Versuchspersonen brachte ähnliche Ergebnisse. Es zeigte sich hier, daß erst am fünften Tag (nach vier Injektionen) die Blutglukosewerte signifikant niedriger als die der Vorperiode waren.

Die bisherigen Untersuchungen beweisen die ILA-Aktivität des Blutextraktes, können aber noch keine Entscheidung darüber bringen, in wieweit neben der Förderung der Glukosepermeation auch der Glukoseumsatz direkt gefördert wird. Der erniedrigte Nüchternblutzucker der Versuchstiere und der freiwilligen Probanden nach wiederholter Actihaemyl-Injektion sprechen zwar für einen Stoffwechseleffekt, ein direkter Nachweis würde sich jedoch nur mit ^{14}C-1 bzw. ^{14}C-6-markierter Glukose erbringen lassen. Andererseits läßt sich durch Bestimmung der Glykogensynthese bzw. Glykogenspeicherung ein indirekter Nachweis des Stoffwechseleffektes auf die Glukose erbringen, da nur phosphorylierte Glukose in Glykogen umgewandelt werden kann.

Von diesem Gesichtspunkt aus waren die Untersuchungen des Zwerchfell- und des Leberglykogens bei Ratten unter der Einwirkung von Actihaemyl mit und ohne Glukosezusatz von besonderem Interesse. Im Sinne eines Insulin-artigen Stoffwechseleffektes verliefen die Versuche mit einmaliger i.p. Injektion von 4 ml Actihaemyl an Hungertieren. Die Erhöhung des Zwerchfellglykogens gegenüber den Ringerkontrollen war nach einer Stunde signifikant, nach zwei Stunden nur knapp insignifikant. Dies ergänzt die Untersuchungen von WEINGES (vergl. MITTENZWEI) über die Insulin-ähnliche Wirksamkeit des Blutextraktes am Fettgewebe mit dem Nachweis einer etwa hundertprozentigen Erhöhung des Glukoseeinbaus. Die vorliegenden in vivo Versuche zeigen den gleichen Effekt am Muskelgewebe.

Nicht so einfach zu deuten sind die Befunde am Zwerchfellglykogen nach Applikation von 4 ml Actihaemyl unter Zusatz von 80 mg Glukose/Tier (Versuchsgruppe B). Diese Glukosebelastung führt sicher zu einer endogenen Insulinausschüttung, die noch wesentlich stärker mit der Actihaemylwirkung interferiert, wenn 800 mg Glukose verwendet werden, wie in der Versuchsgruppe C. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Actihaemyl- und den Ringertieren besteht bei der Versuchsgruppe B darin, daß die Actihaemyl-Tiere einen stetigen Anstieg des Zwerchfellglykogens während des

Beobachtungszeitraums, unabhängig vom Blutglukosespiegel, aufweisen. In der dritten und vierten Stunde besteht ein signifikanter Unterschied zur Ringer-Kontrollgruppe. Die Ringertiere zeigen dagegen ein paralleles Verhalten des Zwerchfellglykogens mit dem Glukosespiegel, d.h. in der dritten und vierten Stunde ein deutliches Absinken. Da nach drei Stunden der Blutzucker bei den mit Actihaemyl behandelten Tieren sogar etwas höher lag (65,7 mg%) als bei den Ringer-Tieren (54,5 mg%) kann man folgern, daß der Blutextrakt eine gewisse Pufferwirkung sowohl auf die endogene Insulinausschüttung (Gegenregulation) als auch, oder damit zusammenhängend, auf die Speicherung des Zwerchfellglykogens hat. Konsequenterweise werden diese dargelegten Verhältnisse in der Versuchsgruppe C noch verstärkt infolge des extrem hohen Zusatzes von 800 mg Glukose/Tier. Die abgeschwächte endogene Insulinwirkung führt dazu, daß die mit Actihaemyl behandelten Tiere einen höheren Blutglukosespiegel aufweisen, der auch in der dritten Stunde noch über 400 mg% liegt, während bei den mit Ringerlösung behandelten Tieren niedrigere Blutglukosewerte rascher normalisiert werden. Dementsprechend verhält sich das Zwerchfellglykogen, das die niedrigsten Werte bei der Actihaemyl-Gruppe aufweist. Aber auch hier ist ein stetiger Anstieg der Glykogenkonzentration bis zur vierten Stunde zu beobachten. Die Ergebnisse dieser Versuchsgruppe deuten auch auf unterschiedliche Wirkungen der i.p. bzw. der i.v. Injektion von Actihaemyl hin.

Die Verhältnisse in dieser Versuchsgruppe wurden dadurch kompliziert, daß ein Teil der Tiere, die mit 800 mg Glukose in Actihaemyl injiziert worden waren in der zweiten und dritten Stunde unter komatösen Erscheinungen zugrundegingen. Dagegen überlebten alle Tiere, die mit 800 mg Glukose in Ringerlösung behandelt worden waren. Wie die Blutglukosewerte zeigen, kann es sich bei den schockähnlichen Symptomen nicht um einen hypoglykämischen Schock handeln, obwohl gerade die verstorbenen Tiere die niedrigsten Zwerchfellglykogenwerte aufwiesen. Eine Deutung dieser Symptomatik ist schwierig. Eine Wiederholung dieser Versuche mit 800 mg Glukose und Actihaemyl im Vergleich zum Leerpräparat zeigte, daß die Leerpräparat-Tiere alle überlebten. Es kann sich also nicht um einen Effekt der im Actihaemyl enthaltenen Salze oder/und Aminosäuren handeln.

Die Leberglykogenwerte waren bei diesen Versuchsgruppen im allgemeinen uneinheitlich. Die Schwankungen innerhalb der einzelnen Gruppen waren sehr groß, so daß keine auswertbaren Differenzen zwischen Actihaemyl und Ringer bzw. Leerpräparat auftraten. Das kann daran liegen, daß es sich um Hungertiere handelte, die einen sehr empfindlichen Leberstoffwechsel haben und bei denen die Glukosegaben und die Actihaemylgaben auch im Zusammenhang mit den endogenen Insulinausschüttungen stark interferieren können. Die

Befunde von SCHWABE über einen verstärkten Leberglykogeneinbau nach allerdings mehrtägiger Actihaemylapplikation, konnten bei dieser einmaligen Actihaemylgabe nicht bestätigt werden. Unter dem Einfluß einer einmaligen Actihaemyldosis bei Hungertieren ist das Leberglykogen gegenüber den Ringerkontrollen z. T. nicht signifikant erhöht. Gleichzeitiger Zusatz von 2 % bzw. 20 % Glukose führt aber zu einer Umkehrung der Verhältnisse mit niedrigeren Glykogenwerten bei den Actihaemyl-Tieren. Die Ergebnisse der Untersuchungen über die Fettbelastung bei Kaninchen unter gleichzeitiger Actihaemylgabe bestätigen die Untersuchungen von HAMMERL und PICHLER bei der Fettbelastung beim Menschen. Diese Autoren konnten zeigen, daß unter Actihaemyl ein rascherer Abbau der Gesamtfette erfolgt und, daß Actihaemyl ebenfalls eine signifikante Erniedrigung der freien Fettsäuren im Plasma verursacht. Parallel dazu wurden erhöhte Blutzuckerwerte gesenkt. Es kann sich hierbei um eine Insulin-ähnliche Aktivität handeln. Da aber auch die Tiere die Actihaemyl-Leerpräparat erhielten, eine gewisse beschleunigte Senkung der freien Fettsäuren und der Triglyzeride zeigten, müssen noch andere Wirkungsmechanismen eine Rolle spielen. Mit anderen Worten: die spezifische Actihaemyl-Wirksamkeit dürfte sich in der bereits experimentell nachgewiesenen Hemmung der Lipolyse und im erhöhten Umsatz bzw. Veresterung der freien Fettsäuren auswirken, während die Substrate des Leerpräparates einen Einfluß auf die Verteilung der Fette haben könnten. Auffallend war bei diesen Versuchen, daß die Fettinfusionen unter Actihaemyl, aber auch unter Actihaemyl-Leerpräparat, wesentlich besser toleriert wurden. Alle Tiere dieser Gruppen überlebten, während alle mit Ringer vorbehandelten Tiere verstarben.

Die Erhöhung von Enzymaktivitäten im Serum ist vor allem ein Maß für eine Leberzellschädigung. Tierexperimentelle Untersuchungen von GOSLAR und Mitarb. konnten zeigen, daß eine Reihe von Fermenten der toxisch geschädigten Leber unter Actihaemyl eine schnellere Regeneration aufweisen. Das bei unseren Untersuchungen gefundene Absinken der Enzymaktivität von SGOT und SLDH nach dreimaliger Actihaemyl-Injektion zeigt, daß Actihaemyl sicher keine Zellschädigung verursacht, sondern möglicherweise sogar eine schützende Wirkung ausübt.

Die dargelegten Ergebnisse beweisen also die Wirkung des Blutextraktes Actihaemyl auf den Kohlehydratstoffwechsel im Sinne eines Insulin-ähnlichen Effektes.

V. ZUSAMMENFASSUNG

An 564 Ratten und 17 Kaninchen wurde die Wirkung des Blutextraktes Actihaemyl auf den Kohlenhydratstoffwechsel untersucht. Bei Kaninchen wurde gleichzeitig der Fettstoffwechsel durch Fettbelastung geprüft. Außerdem wurden Untersuchungen an 20 gesunden Versuchspersonen durchgeführt. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

1. Actihaemyl beschleunigt den Blutglukose-Abfall bei Ratten (2 ml i.v./Tier) nach i.v. Belastung mit 400 mg bzw. 1000 mg Glukose/Tier. Das Leerpräparat zeigt eine ähnliche doch schwächere und nicht signifikante Wirkung.

   5 Minuten nach Belastung zeigen die Actihaemyl-Tiere ein erhöhtes Verteilungsvolumen (signifikant niedriger Blutglukosewert). Der raschere Abfall in der ersten bis dritten Stunde läßt auf eine beschleunigte Umsatzrate der Glukose schließen.

2. Actihaemyl (2,0 ml i.v./Tier) vermindert die Erhöhung der Blutglukose bei Insulin-Antikörper-Injektion. Der Blutglukose-Ausgangswert wird nach 120 Minuten erreicht. Leerpräparat und Ringerlösung zeigen keinen Einfluß.

3. Eine siebentägige Vorbehandlung der Ratten mit Actihaemyl (tgl. 2,0 ml i.p.) führt zu einer signifikanten Senkung des Nüchternblutzuckers.

4. Gruppe A) Intraperitoneale Injektionen von 4 ml Actihaemyl/Ratte (Körpergewicht: 80-120 g) führen zu einer Erhöhung des Zwerchfellglykogens, die eine Stunde nach Injektion signifikant und vier Stunden danach knapp insignifikant gegenüber Ringerkontrollen ist. Das Leberglykogen zeigt eine leichte Erhöhung aber insignifikante Differenzen gegenüber Ringer.

   Gruppe B) 4 ml Actihaemyl i.p./Tier mit 2 % Glukosezusatz (entsprechend 80 mg Glukose/Ratte) führt in den ersten zwei Stunden zu einem langsameren Zwerchfellglykogenanstieg als bei den Ringerkontrollen. Nach drei und vier Stunden ist das Zwerchfellglykogen der mit Actihaemyl behandelten Tiere hingegen erhöht (nach vier Stunden signifikant). Das Leberglykogen zeigt die Tendenz einer Steigerung bei den mit Actihaemyl behandelten Tieren, jedoch mit stärkeren Schwankungen.

Gruppe C) 4 ml Actihaemyl i.p. mit 20 % Glukosezusatz (entsprechend 800 mg Glukose/Ratte) führt zu einem jeweils niedrigeren Zwerchfellglykogen als Glukose-Ringerlösung (zwischen ein und vier Stunden nach Injektion signifikant). Auch hier ist eine stete Zunahme des Zwerchfellglykogens bei den mit Actihaemyl vorbehandelten Tieren zu bemerken. Das Leberglykogen zeigt geringere Werte bei der Actihaemyl-Gruppe, die Differenzen gegenüber den Ringertieren sind jedoch nicht signifikant.

5. Bei Fettinfusionen bei Kaninchen sinken freie Fettsäuren, Triglyzeride und Glukose im Blut bei gleichzeitiger Actihaemyl-Gabe (20 ml/Tier) signifikant beschleunigt gegenüber Ringer-behandelten Tieren. Auch das Leerpräparat verhält sich ähnlich. Während die mit Ringerlösung behandelten Tiere ausnahmslos nach der Infonutrol-Infusion (30 ml) verstarben, überlebten alle Tiere, die Actihaemyl bzw. Actihaemyl-Leerpräparat erhielten.

6. Tägliche Actihaemyl-Injektionen (0,5 ml i.v./kg) bei gesunden Versuchspersonen führen zu einer Senkung des Blutglukosenüchternwertes mit einem Blutglukoseminimum am fünften Tage. Anschließend kommt es trotz weiterer täglicher Actihaemyl-Injektionen zu einem allmählichen Wiederanstieg der Blutglukosenüchternwerte.

7. Nach fünftägiger Behandlung von freiwilligen Versuchspersonen mit 20 ml Actihaemyl i.v. kommt es zu einer leichten Senkung der SGOT und SLDH-Werte, wobei die Differenz bei SLDH zwischen dem Tag 0 und Tag 3 signifikant ist.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. H. MEHNERT danke ich für die freundliche Überlassung des Themas. Ihm, Herrn Dr. med. H. FÖRSTER sowie Herrn Dr. MITTENZWEI (Hormon-Chemie, München) danke ich für ihre Unterstützung und ihr großes Interesse am Fortgang der Arbeit.

Außerdem danke ich Herrn Prof. Dr. med. W. SEITZ, daß ich in seiner Klinik arbeiten durfte.

VI. LITERATUR

BREUER H., M. SCHÖNFELDER und H. W. SCHREIBER:
"Über die Wirkung eines Blutextraktes auf die Atmung menschlicher Leberschnitte und die Aktivität der Serumcholinesterase bei Leberkrankheiten"
Klin. Wschr. 39, 1189 (1961)

BREUER H.: "Wirkung eines eiweißfreien Extraktes aus Kälberblut auf den Kationentransport in Nierencortex-Schnitten"
Arzneim.-Forsch. 12, 667 (1962)

BROGHAMMER H.: "Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen über Wirkungen von Actihaemyl"
Münchner Med. Wschr. 107, 1007 (1965)

CORI C. F., G. T. CORI and A. A. GREEN:
"Crystalline muscle phosphorylase"
J. Biol. Chem. 151, 39 (1943)

DUNCOMBE W. G.: "The colorimetric microdetermination of long chain fatty acids"
Biochem. J. 88, 7 (1963)

FLOYD J. C. jr., St. S. FAJANS, J. W. CONN, R. F. KNOPF und J. RULL:
"Stimulation of Insulin Secretion by Amino Acids"
J. clin. Invest. 45, 1487 (1966)

FÖRSTER H., H. MEHNERT, H. FÖRSTER und I. SCHINDERA:
"Vergleichende Blutglykogenbestimmungen bei Normalpersonen verschiedenen Alters sowie bei Diabetikern."
Dtsch. Med. Wschr. 91, 1718 (1966)

GABKA J.: "Actihaemyl in der Kiefer- und Gesichtschirurgie unter Berücksichtigung tierexperimenteller Ergebnisse"
Med. Moschr. 21, 175 (1967)

GOSLAR H. G.; JAEGER K. H., E. SCHEITHAUER und J. PICHOTKA:
"Enzymhistochemische Untersuchungen an der Rattenleber nach unbehandelter und behandelter Tetrachlorkohlenstoffvergiftung"
Arzneim.-Forsch. 16, 359 (1966)

HAMMERL H., O. PICHLER und M. STUDLAR:
"Die Wirkung eines eiweißfreien Blutextraktes auf die Konzentration der freien Fettsäuren im Plasma"
Arzneim.-Forsch. 16, 1330 (1966)

HUGGETT A. St. and D. A. NIXON:
"Enzymic determination of blood glucose"
Biochem. J. 66, 12 P (1957)

JAEGER K., LEYBOLD K., H. MITTENZWEI, STAUDINGER, Hj. und L. v. WALDSTÄTTEN: "Die Förderung der Zellatmung durch einen Blutextrakt"
Arzneim.-Forsch. 15, 750 (1965)

KAPPERT A.: "Erfahrungen mit der intraarteriellen Solcoseryl-Therapie bei peripheren Durchblutungsstörungen"
Medizinische Welt 15, 752 (1965)

LEVINE R. und M. S. GOLDSTEIN:
"On the mechanism of action of insulin"
Rec. Progr. Hormone Res. 11, 343 (1955)

MEYTHALER F.: "Therapie mit Blutextrakten"
Therapiewoche 15, 2, 57 (1965)

MITTENZWEI H.: "On methods of Standardization of the stimulating effect of organ extracts on cellular respiration and metabolism"
International Symposium on Drugs of Animal Origin, 91 (1967)
Ferro Edizioni - Milano

QUADBECK G., B. CLAVER und G. MINET:
"Einfluß von Stimulantien und Antidepressiva auf das Höhen EEG der Ratte"
Arzneim.-Forsch. 14, 563 (1964)

QUADBECK G.: "Tierexperimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung der zentralnervösen Ernährungsstörungen durch Solcoseryl"
Österreichische Monatshefte f. ärztl. Fortbildung: 49 (1964)

RAFAELSEN O. J.: "Insulinlike activity of human serum determined by glycogen increase of diaphoragen after intraperitoneal injection into the intact rat"
Acta physiol. scand. 61, 323 (1966)

REICHEL H.: "Tierexperimentelle Erfahrungen mit Blutextrakten"
Therapiewoche 15, 55 (1965)

REICHEL H., Chr. WEISS und H.P. LEICHTWEISS:
"Die Wirkung eines Blutextraktes auf die Sauerstoffaufnahme isolierter künstlich perfundierter Nieren und Skelettmuskeln der Ratte"
Arzneim.-Forsch. 15, 756 (1965)

SIESS E., A. TEINZER, E. STRUCK, O. WIELAND:
"Bildung eines insulinartigen Wirkstoffes durch isolierte Rattenleber"
Diabetologia 1, 21 (1965)

SCHÄFER G. und W. LAMPRECHT:
"Zur Wirkung von Blutextrakten auf die Mitochondrienatmung und die oxydative Phosphorylierung"
Arzneim.-Forsch. 15, 757 (1965)

SCHIRREN C., DIETRICH, K. und F. BIEL:
"Die Therapie peripherer Durchblutungsstörungen (Angioorganopathien) mit einem Blutextrakt"
Der Hausarzt, 18, 260 (1967)

SCHWABE K.: "Experimentelle Untersuchungen mit einem eiweißfreien Extrakt aus Vollblut von Kälbern mit hoher RES-Aktivität"
Arzneim.-Forsch. 16, 364 (1966)

STÜBNER C.: "Zur Beeinflussung des Blutglukosespiegels durch Narkotika und chirurgische Eingriffe bei Mensch und Tier"
Inauguraldissertation München 1966

TROL W. and R.K. CANNAN:
"A modified photometric ninhydrin method for the analysis of amino and imino acids".
J. Biol. Chem. 200, 803 (1953)

WEBER G., M. ALEA, E.A. FISCHER, N.B. STAMM:
"Regulatory pattern of liver carbohydrate metabolizing enzymes: insulin as inducer of key glycolytic enzymes."
Enzymol. biol. clin. 7, 11 (1966)

WEINGES K.: zitiert nach H. MITTENZWEI

WICKINGEN H.: "Über die Wirkung eines Blutextraktes auf die Wundheilung"
Wien. med. Wschr. 110, 90 (1960)

WIELAND O.: "Eine enzymatische Methode zur Bestimmung von Glycerin"
Biochem. Z. 329, 313 (1957)

WOLL I.G.: "Relation of RNA and Protein Synthesis to the Sedimentation of muscle ribosomes effect of Diabetes and Insulin".
Proc. Nat. Academy Sci. 67, 1884 (1967)

LEBENSLAUF

Am 18. September 1941 wurde ich, Werner Bachmann, als zweites Kind des Johann Bachmann und seiner Ehefrau Mathilde, geb. Saalfrank, in Marktleuthen geboren. 1943 ist mein Vater in Oberitalien gefallen.

Nach dem Besuch der Volksschule in Marktleuthen trat ich im September 1952 in die Oberrealschule Marktredwitz ein, an der ich im Juni 1961 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1961/62 begann ich mein Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München. Nach dem Sommersemester 1962 bestand ich die naturwissenschaftliche und im Frühjahr 1964 die ärztliche Vorprüfung. Am 22. Dezember 1967 beendete ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen.